

Роль Т-регуляторных клеток в патогенезе псориаза

В.Р. Хайрутдинов, А.Ф. Михайличенко, М.С. Мухина, А.В. Самцов, Е.Н. Имянитов, А.М. Иванов

The role of T-regulatory cells in the pathogenesis of psoriasis

V.R. KHAIRUTDINOV, A.F. MICHAILICHENCO, M.A. MUKHINA, A.V. SAMTSOV, E.N. IMYANITOV, A.M. IVANOV

об авторах:

В.Р. Хайрутдинов — начальник кожно-венерологического отделения кафедры кожных и венерических болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург
А.Ф. Михайличенко — старший лаборант НИЛ микробиологической безопасности и профилактики особо опасных инфекций НИО нанобиотехнологий Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

М.С. Мухина — старший научный сотрудник лаборатории иммуногистохимии Российского научного центра радиологии и хирургических технологий Росмедтехнологий, Санкт-Петербург

А.В. Самцов — начальник кафедры кожных и венерических болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Е.Н. Имянитов — руководитель отдела биологии опухолевого роста НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург

А.М. Иванов — начальник научно-исследовательского отдела нанобиотехнологий Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Т-регуляторные клетки контролируют силу и продолжительность иммунного ответа и играют важную роль в патогенезе псориаза. Целью исследования было изучение содержания Т-регуляторных клеток в периферической крови и пораженной коже больных псориазом, уровня экспрессии мРНК FOXP3 в псориазных очагах. Определение субпопуляции Т-регуляторных лимфоцитов в периферической крови осуществляли методом проточной цитометрии. Иммуногистохимическое исследование выполнялось с использованием моноклональных анти-FOXP3 антител. Уровень экспрессии мРНК FOXP3 определяли в биоптатах кожи методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Выявлено увеличение относительного содержания Т-регуляторных клеток в периферической крови у больных псориазом в прогрессирующий период по сравнению со здоровыми лицами. Экспрессия мРНК FOXP3 в псориазных очагах была в 3,1 раза выше аналогичного показателя у здоровых лиц. Отмечено десятикратное увеличение количества Т-регуляторных лимфоцитов в коже больных псориазом в прогрессирующий период по сравнению с кожей здоровых доноров.

Ключевые слова: **псориаз, Т-регуляторные клетки, FOXP3, иммуногистохимия, экспрессия.**

T-regulatory cells control the strength and duration of immune response and play an important role in the pathogenesis of psoriasis. The goal of the study was to examine the content of T-regulatory cells in peripheral blood and affected skin of psoriasis patients, the level of FOXP3 mRNA expression in psoriatic skin. Determination of subpopulations of T-regulatory lymphocytes in peripheral blood was performed using flow cytometry. The median level of FOXP3 mRNA expression was determined in biopsies of the skin by PCR in real time. Immunohistochemistry was performed with monoclonal anti-FOXP3 antibodies. Revealed an increase in the relative content of T-regulatory cells in the peripheral blood of patients with psoriasis in the progressive period, compared with healthy people. The level of FOXP3 mRNA expression in psoriatic foci was 3.1 times higher than in healthy individuals. Was noted a 10-fold increase in the number of T-regulatory lymphocytes in the skin of psoriasis patients in the progressive period, compared with skin from healthy donors.

Key words: **psoriasis, T-regulatory cells, FOXP3, immunohistochemistry, expression.**

■ Дисбаланс между регуляторными и эффекторными клетками приводит к неадекватному иммунному ответу при псориазе и является центральным звеном в патогенезе этого заболевания. Т-регуляторные клетки представляют субпопуляцию Т-лимфоцитов и выполняют важную роль в поддержании иммунной толерантности в организме. Они контролируют силу и продолжительность иммунного ответа через угнетение активности Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток [1]. Воспалительный процесс в псориазных очагах больных поддерживается за счет Т-клеточных иммунных механизмов. Активация Т-лимфоцитов в пораженной коже сопровождается продукцией провоспалительных цитокинов и факторов роста, приводящих к избыточной пролиферации кератиноцитов и нарушению их дифференцировки [2].

Специфичным маркером Т-регуляторных клеток является транскрипционный фактор FOXP3 (ядерный фактор транскрипции-3, связанный с хромосомой X), посредством которого реализуется их супрессорная активность [3]. Продemonстрировано, что FOXP3 может ингибировать факторы транскрипции NFAT (ядерный фактор активированных Т-лимфоцитов) и NFκB (ядерный фактор транскрипции каппа В), контролирующие реализацию клеточного иммунного ответа при псориазе [4]. Транскрипционные факторы NFAT и NFκB, взаимодействуя с промоторными и/или энхансерными участками генов, регулируют транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток и экспрессию мРНК важнейших медиаторов воспаления — цитокинов (TNF-α — фактора некроза опухолей-α, γ-IFN — γ-интерферона, IL-2 — интерлейкина-2 и др.), факторов роста клеток (GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора) и IL-3 (интерлейкина-3), мембранных костимулирующих молекул CD40L (лиганда молекулы CD40) и CTLA-4 (антигена цитотоксических Т-лимфоцитов-4), молекул адгезии (ICAM — молекулы межклеточной адгезии, VCAM — молекулы адгезии эндотелия сосудов) и хемокинов [5,6].

Известно, что индукция FOXP3 в наивных CD4+ Т-клетках посредством TGF-β (трансформирующего фактора роста-β) ведет к увеличению числа Т-регуляторных клеток [7]. А.С. Бельтюкова и соавт. (2010) обнаружили у больных псориазом увеличение экспрессии гена FOXP3 как в пораженной, так и в визуально здоровой коже [8]. При исследовании биоптатов кожи больных псориазом W.J. Yun и соавт. (2010) выявили коррелирующее с тяжестью болезни увеличение количества Т-регуляторных клеток в очагах поражения по сравнению с кожей здоровых людей. Кроме этого они обнаружили снижение количества Т-регуляторных лимфоцитов у пациентов в начале развития обострения псориаза. В периферической крови различий в количестве Т-регуляторных клеток между группами больных псориазом и здоровых доноров не найдено [9].

Н. Sugiyama и соавт. (2005) исследовали функциональные свойства Т-регуляторных клеток, извлеченных из псориазных очагов и периферической крови больных псориазом и здоровых лиц. Они обнаружили, что содержание Т-регуляторных клеток в крови не имело различий, но у больных псориазом выявлялось нарушение их активности. Это нарушение проявлялось снижением способности подавлять стимулированную аллоантигеном пролиферацию CD4+ CD25- Т-лимфоцитов *in vitro* [10].

Неожиданные результаты были получены в эксперименте Н. Bovenschen и соавт. Авторы обнаружили способность Т-регуляторных клеток, экспрессирующих FOXP3+, в псориазных очагах в условиях высокого содержания IL-23 дифференцироваться в клетки, продуцирующие IL-17A. Эти Т-лимфоциты имели фенотип CD4+ IL-17A+ FOXP3+ [11].

Многие исследователи предполагают, что процесс воспаления при псориазе имеет аутоиммунную природу [2, 12]. В то же время у больных системной красной волчанкой, представляющей классическое аутоиммунное заболевание, отмечается значительное снижение количества Т-регуляторных клеток в периферической крови, которое зависит от активности процесса [13]. При обследовании больных ювенильным идиопатическим артритом В. Olivito и соавт. обнаружили значительное снижение количества Т-регуляторных и повышение числа Th17-клеток в периферической крови по сравнению со здоровыми подростками. При этом в синовиальной жидкости пораженных суставов отмечалась более высокая экспрессия мРНК FOXP3, чем в контроле. Выявлено почти трехкратное увеличение концентрации транскрипционного фактора FOXP3 в Т-регуляторных клетках синовиальной жидкости по сравнению с аналогичными клетками периферической крови [14].

Фактор некроза опухолей-α (TNF-α) является цитокином с плейотропным эффектом, оказывающим многочисленное провоспалительное и костимулирующее действие на различные клетки [15]. Участие TNF-α в регуляции взаимодействия Т-эффекторных и Т-регуляторных клеток в процессе воспаления было изучено в экспериментальных работах Х. Chen и соавт. (2007). На клеточных культурах, состоящих из CD4+ CD25- Т-лимфоцитов и Т-регуляторных клеток, они продемонстрировали, что кратковременная (<48 ч.) экспозиция TNF-α приводит к подавлению супрессорного действия Т-регуляторных клеток на пролиферацию Т-эффекторов. Более длительное присутствие TNF-α сопровождалось восстановлением супрессорной активности Т-регуляторных клеток, подавлением секреции цитокинов и пролиферации CD4+ CD25- Т-лимфоцитов. Авторы предположили, что физиологическое значение данного феномена заключается в задержке иммуносупрессивного действия Т-регуляторных клеток с целью реализации процесса

воспаления посредством Т-эффекторов с последующим торможением иммунного ответа [16]. TNF- α оказывает непосредственное действие на Т-клетки через экспрессируемый на их поверхности рецептор TNFR11. Применение анти-TNFR11 моноклональных антител приводит к уменьшению численности Т-регуляторных клеток в области псориатических высыпаний [17]. С этой позиции можно попытаться объяснить парадоксальный факт, когда на фоне терапии ревматоидного артрита моноклональными антителами к TNF- α у пациентов манифестировал псориаз или у больных псориатическим артритом развивались псориатические высыпания на коже [18]. Возможно, в этих случаях нейтрализация стимулирующего действия TNF- α сопровождалась подавлением Т-регуляторных клеток, что приводило к инициации псориатического воспаления в коже.

Таким образом, результаты проведенных исследований имеют противоречивые сведения о численности Т-регуляторных лимфоцитов при псориазе. Единство всех авторов сводится к мнению, что эти клетки играют важную роль в развитии псориаза.

Целью нашего исследования было изучение содержания Т-регуляторных клеток в периферической крови и пораженной коже больных псориазом, уровня экспрессии мРНК FOXP3 в области псориатических высыпаний.

Материал и методы

В группу больных вульгарным псориазом вошел 41 пациент в возрасте от 21 года до 79 лет (средний возраст $47,6 \pm 2,04$ года). Группу контроля составили 30 здоровых доноров (средний возраст $44,7 \pm 2,14$ года). Тяжесть болезни оценивалась по индексу площади и тяжести псориатических поражений PASI. Легкая степень тяжести псориаза ($PASI < 10$) отмечена у 2 (4,9%) пациентов, средняя ($PASI 10-19$) — у 11 (26,8%) и тяжелая ($PASI \geq 20$) — у 28 (68,3%) пациентов. Псориатический артрит наблюдался у 15 (36,6%) больных. Все пациенты получали общую гипосенсибилизирующую терапию, сосудистые препараты, витамины, нестероидные противовоспалительные средства (при наличии псориатического артрита), наружное лечение.

Определение содержания Т-регуляторных клеток в периферической крови

Для исследования использовали венозную кровь в количестве 4,0 мл. Определение субпопуляции Т-регуляторных лимфоцитов осуществляли с применением трехцветной проточной цитометрии с помощью моноклональных антител фирмы «Beckman Coulter» на лазерном проточном цитофлуориметре «Cytomics FC500» («Beckman Coulter Inc.», США). Наиболее специфичным маркером для идентификации Т-рег клеток является фактор транскрипции FOXP3, но его локализация внутри клетки значительно осложняет идентификацию Т-регуляторных лимфоцитов при

проточной цитометрии. В ряде исследований показано, что экспрессия CD127, представляющего α -цепь рецептора IL-7, на Т-регуляторных лимфоцитах снижена или отсутствует, что позволяет проводить детекцию этих клеток без выявления FOXP3 по иммунофенотипу CD4+CD25^{high+int}CD127^{low+neg} [19]. Для окрашивания клеток использовали моноклональные антитела, меченные FITC (изотиоцианат флуоресцеина), PE (фикоэритрин) и PC5 (комплекс PE с цианином-5), производства «Beckman Coulter» (США): CD4/FITC, CD25/PC5, CD127/PE.

Исследование экспрессии мРНК FOXP3

Материалом для исследования экспрессии мРНК FOXP3 служили биоптаты кожи, полученные методом панч-биопсии (6 мм) от 37 больных псориазом в прогрессирующем периоде из периферии псориатических бляшек и от 16 здоровых доноров. Повторная биопсия кожи была произведена у 9 пациентов в период ремиссии из области разрешившихся высыпаний. Исследуемый материал помещался в 10% формалин с дальнейшим обезвоживанием и заключением в парафин. мРНК выделяли из срезов кожи и использовали для синтеза комплементарной ДНК в реакции обратной транскрипции. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени проводилась на оборудовании «iCycler iQ5» («Bio-Rad Laboratories», США). Каждая ПЦР (суммарный объем 20 мкл) содержала 1 мкл раствора кДНК, 2,5 ед. ДНК-полимеразы «Thermostar», двукратный ПЦР-буфер (pH 8,3), 3,0 mM MgCl₂, 200 мкМ каждого из нуклеотидтрифосфатов, 0,3 мкМ прямого и обратного праймеров гена-рефери (SDHA), 0,5 мкМ прямого и обратного праймеров гена-мишени (FOXP3). ПЦР начиналась с 10-минутной активации Taq-полимеразы при 95 °C; для накопления ПЦР-продукта проводилось 45 циклов амплификации-денатурации (12 с., 95 °C), отжиг (25 с., 62 °C) и синтез (25 с., 72 °C).

Морфологическое исследование

Объектами морфологического исследования были пораженные участки кожи больных псориазом в прогрессирующем периоде (папулы), участки кожи больных псориазом в период ремиссии (вторичные пятна), участки кожи здоровых доноров. После получения парафиновых блоков кожи из них готовили срезы толщиной 3 мкм, одну часть которых окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали в световом микроскопе при увеличении 10х, 20х и 40х. С другой частью материала проводили иммуногистохимическое исследование. Для иммуногистохимической детекции Т-регуляторных лимфоцитов использовали первичные мышиные моноклональные антитела анти-FOXP3 (FOXP3 antibody [236A/E7], Abcam, США), систему визуализации Envision (Dako, Дания), в качестве хромогена применяли диаминобензидин (Dako, Дания). Определение количества FOXP3-позитивных клеток (окрашенных иммунопероксидазной меткой, окрашивание ядер-

ное) выполняли при 200-кратном увеличении светового микроскопа в 3 полях зрения, выбранных с учетом наибольшего содержания меченых клеток. Полученные данные представлены в виде среднего количества FOXP3-позитивных клеток для каждого биоптата.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных проводилась с использованием статистической программы «SPSS 13.0 for Windows» (SPSS, Inc). Уровень экспрессии выражался в условных единицах относительной экспрессии, рассчитанных по формуле $2^{(Ct,ref - Ct,tar)}$, где Ct — номер цикла ПЦР, при котором число копий превышает установленный порог; ref — ген-рефери (SDHA); tar — ген-мишень (FOXP3). Для оценки различий между больными и здоровыми применяли t -критерий Стьюдента и критерий Манна — Уитни. Для сравнения показателей больных до и после лечения использовали критерий знаковых рангов Уилкоксона. Для выявления взаимосвязи показателей рассчитывали коэффициент (r) ранговой корреляции Спирмена. Тесноту связи между признаками условно считали слабой при значениях коэффициента 0,3 и менее, умеренной — при значениях более 0,4, но менее 0,7, высокой — при значениях 0,7 и более. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Содержание субпопуляций лимфоцитов в периферической крови

Содержание субпопуляции Т-регуляторных лимфоцитов в периферической крови у больных псориазом в прогрессирующий период ($8,11 \pm 2,2\%$) было достоверно выше, чем у здоровых доноров ($5,66 \pm 1,32\%$; $p < 0,001$; табл. 1). При переходе псориаза от прогрессирующего к периоду ремиссии доля Т-регуляторных клеток практически не изменялась — $8,42 \pm 1,82\%$. Содержание Т-регуляторных лимфоцитов у больных псориазом в период ремиссии ($8,42 \pm 1,82\%$) было выше, чем у здоровых доноров ($5,66 \pm 1,32\%$; $p < 0,001$). Выявлена тенденция к увеличению абсолютного чис-

ла Т-регуляторных клеток в крови больных псориазом в прогрессирующий период ($0,083 \pm 0,043$) и период ремиссии ($0,088 \pm 0,045$) по сравнению со здоровыми лицами ($0,071 \pm 0,035$; $p = 0,23$ и $p = 0,2$ соответственно). Абсолютное число лимфоцитов (CD4+) в периферической крови больных псориазом в прогрессирующий период ($1,024 \pm 0,411$) было ниже, чем у здоровых лиц ($1,269 \pm 0,571$; $p = 0,05$). Динамика показателей относительного и абсолютного содержания лимфоцитов (CD4+) и Т-регуляторных клеток в крови больных псориазом не имела статистически достоверных различий в прогрессирующий период и период ремиссии.

Экспрессия мРНК FOXP3 в коже больных псориазом и здоровых доноров

Уровень экспрессии мРНК FOXP3 в коже в области псориазических поражений составил 3,6 усл. ед., что в 3,1 раза выше аналогичного показателя у здоровых доноров — 1,15 усл. ед. ($p < 0,001$; табл. 2). Между группой больных псориазом в период ремиссии (1,74 усл. ед.) и здоровыми лицами (1,15 усл. ед.) различия экспрессии FOXP3 были недостоверны ($p = 0,67$). Уровень экспрессии мРНК FOXP3 у больных псориазом в прогрессирующем периоде (3,03 усл. ед.) был выше, чем у тех же больных в период ремиссии (1,74 усл. ед.; $p = 0,038$). Не найдено статистически достоверных различий между показателями экспрессии FOXP3 в коже больных с различной тяжестью заболевания, больных с псориазическим артритом и без него. Корреляционный анализ выявил умеренную прямую связь между уровнем экспрессии мРНК FOXP3 в коже и абсолютным количеством Т-регуляторных клеток в периферической крови больных псориазом в прогрессирующем периоде ($r = 0,503$, $p = 0,017$).

Содержание Т-регуляторных клеток в коже больных псориазом и здоровых доноров (рис. 1—5)

При гистологическом исследовании кожи больных псориазом в прогрессирующий период наблюдались следующие изменения: выраженная псориазиформ-

ТАБЛИЦА 1

Показатели численности субпопуляций лимфоцитов в периферической крови больных псориазом и здоровых лиц ($M \pm \sigma^*$)

| Группа | Число обследованных пациентов | Лимфоциты (CD4+) | | Т-регуляторные клетки (CD4+, CD25+, CD127-) | |
|---|-------------------------------|------------------|---------------------------|---|---------------------------|
| | | % | абс. · 10 ⁹ /л | %* | абс. · 10 ⁹ /л |
| Больные псориазом: прогрессирующий период | 41 | 45,73 ± 10,19 | 1,024 ± 0,411 | 8,11 ± 2,20 | 0,083 ± 0,043 |
| | 16 | 45,43 ± 10,35 | 1,060 ± 0,524 | 8,42 ± 1,82 | 0,088 ± 0,045 |
| Здоровые | 30 | 46,84 ± 10,23 | 1,269 ± 0,571 | 5,66 ± 1,32 | 0,071 ± 0,035 |

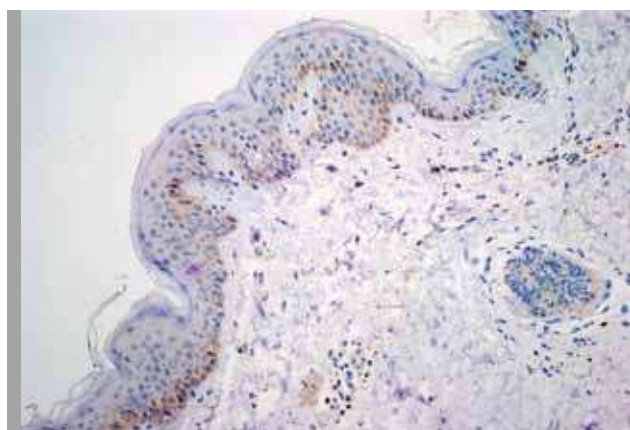
Примечание. * Относительно числа лимфоцитов (CD4+). p — в сравнении со здоровыми лицами.

ТАБЛИЦА 2

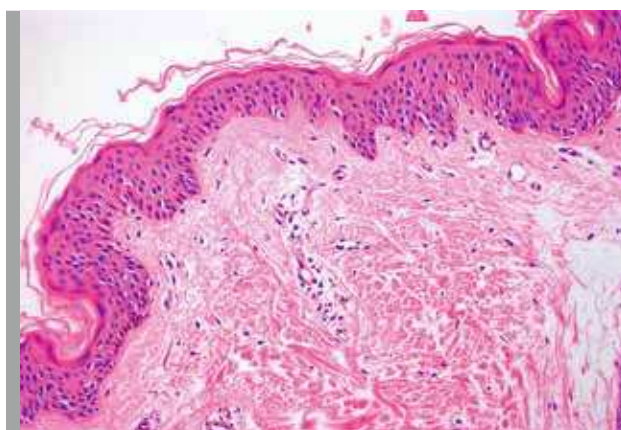
Уровень экспрессии мРНК FOXP3 в коже больных псориазом и здоровых лиц

| Группа | Число пациентов | Уровень относительной экспрессии FOXP3, усл. ед., X ($min-max$) | Уровень значимости p |
|---|-----------------|---|------------------------|
| Больные псориазом: прогрессирующий период период ремиссии | 37 | 3,60 (0,31—13,93) | < 0,001 0,67 |
| | 9 | 1,74 (0,25—3,73) | |
| Здоровые | 16 | 1,15 (0,29—3,03) | |

Примечание. p — в сравнении со здоровыми лицами. Здесь и в табл. 3: X — медиана; $min-max$ — минимальные и максимальные значения.



а



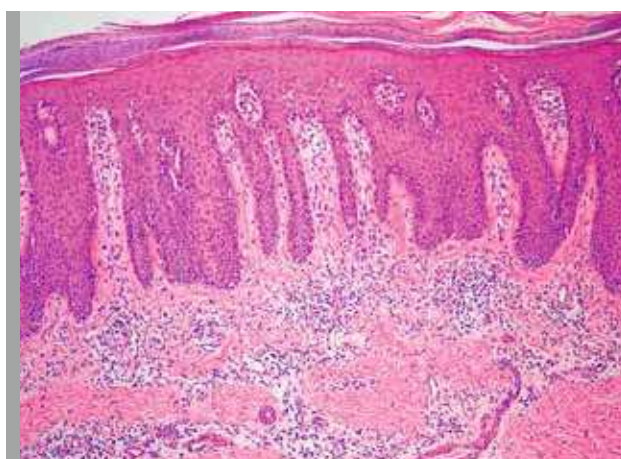
б

Рис. 1. Гистологический препарат кожи здорового донора. $\times 20$.

Здесь и на рис. 2—5: а — иммуногистохимическое окрашивание, б — окраска гематоксилином и эозином

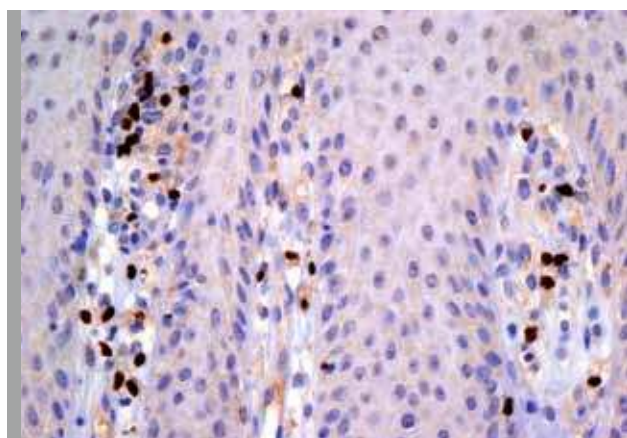


а

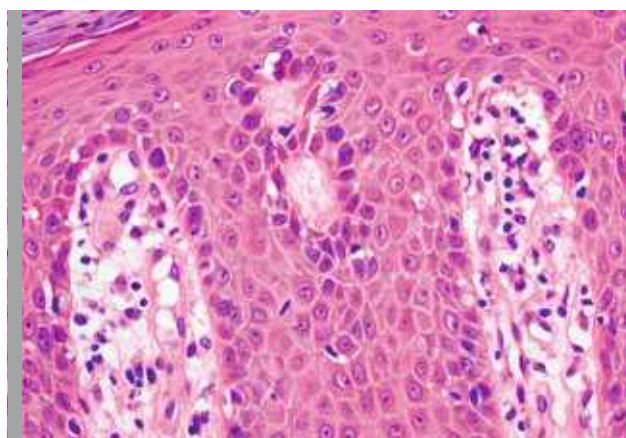


б

Рис. 2. Гистологический препарат кожи больного псориазом. $\times 10$. Пояснение см. в тексте

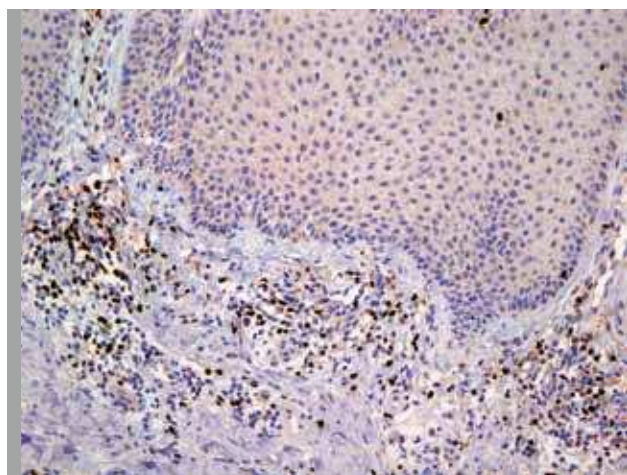


а

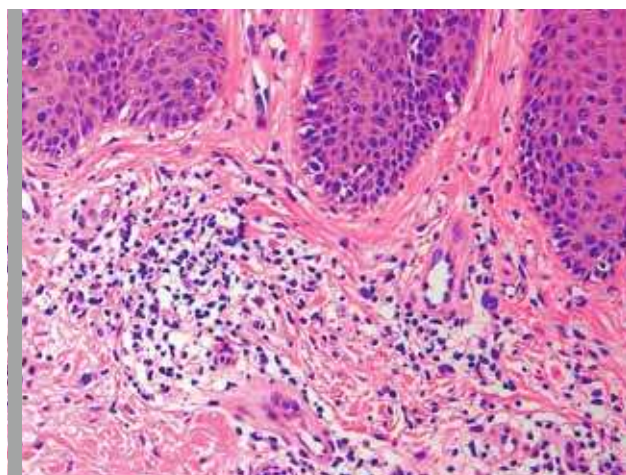


б

Рис. 3. Гистологический препарат кожи больного псориазом, дермальные сосочки. × 40

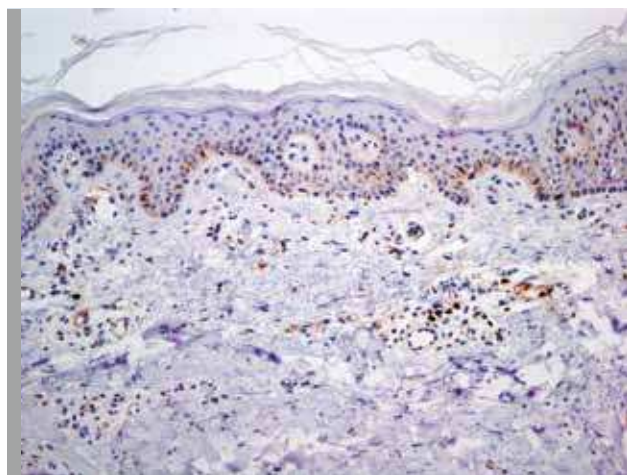


а

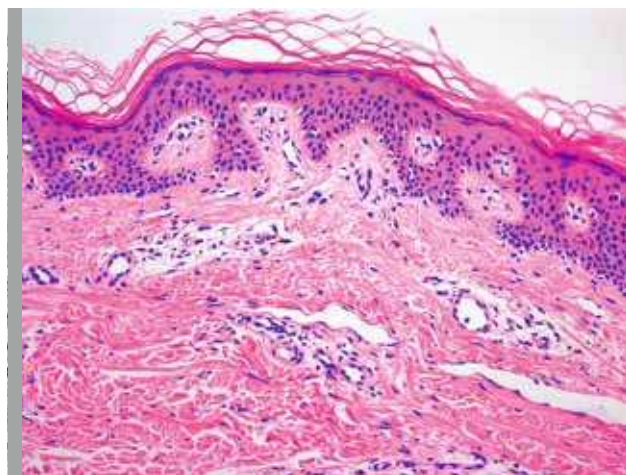


б

Рис. 4. Гистологический препарат кожи больного псориазом, эпидермо-дермальная зона. × 40



а



б

Рис. 5. Гистологический препарат кожи больного псориазом в период ремиссии. × 20

ная гиперплазия эпидермиса (равномерный акантоз, папилломатоз), гиперпаракератоз с очаговым агранулезом, расширение и извитость капилляров в области сосочков дермы, периваскулярные умеренной плотности лимфогистиоцитарные инфильтраты преимущественно в сосочковой и верхней части сетчатой дермы (см. рис. 2, б).

При гистологическом исследовании кожи больных псориазом в период ремиссии отмечалась более высокая плотность лимфогистиоцитарных инфильтратов вокруг расширенных сосудов поверхностного сплетения, чем у здоровых доноров (см. рис. 5, б).

Изучение содержания Т-регуляторных лимфоцитов в коже здоровых людей показало, что медиана количества этих клеток в биоптатах составила 7 в поле зрения. Анализ тканевого распределения показал, что FOXP3-позитивные клетки встречались в эпидермисе в 1,4% случаев, в сосочковом слое дермы, в составе редких периваскулярных инфильтратов — в 43,8% (из них в 18,9% вблизи эпидермо-дермальной зоны), в сетчатом слое дермы, преимущественно около волосяных фолликулов, потовых и сальных желез — в 54,8% (табл. 3).

Количество Т-регуляторных лимфоцитов в коже больных псориазом в прогрессирующий период (70) было в 10 раз выше, чем в коже здоровых доноров ($p < 0,001$). Существенно отличалось распределение FOXP3-позитивных клеток в коже больных псориазом в прогрессирующий период. Т-регуляторные лимфоциты встречались в эпидермисе в 4,4% случаев, в сосочковом слое дермы — в 90,4% (из них в 43,8% в области эпидермо-дермальной зоны), в сетчатом слое дермы — всего в 5,1% (см. рис. 2, а). В сосочковом слое дермы FOXP3-позитивные клетки располагались в составе периваскулярных лимфоцитарно-гистиоци-

тарных инфильтратов, преимущественно на вершине вытянутых дермальных сосочков или у их основания (см. рис. 3, 4).

В биоптатах кожи больных псориазом в период ремиссии количество Т-регуляторных клеток составило 22 в поле зрения, что статистически достоверно отличалось от больных псориазом в прогрессирующий период ($p < 0,001$) и здоровых доноров ($p = 0,004$). В распределении FOXP3-позитивных клеток, в отличие от прогрессирующего периода псориаза, отмечалось уменьшение присутствия Т-регуляторных лимфоцитов в эпидермисе и эпидермо-дермальной области. Корреляционный анализ показал умеренную прямую связь между содержанием Т-регуляторных лимфоцитов в псориазных очагах и уровнем экспрессии мРНК FOXP3 в коже ($r = 0,509$, $p < 0,001$), умеренную прямую связь между количеством Т-регуляторных клеток в коже и индексом PASI ($r = 0,390$, $p = 0,019$).

Обсуждение

В настоящей работе мы использовали комплексный подход при изучении Т-регуляторных лимфоцитов у больных псориазом. Анализ содержания Т-регуляторных клеток в периферической крови и очагах поражения, а также уровня экспрессии мРНК FOXP3 в коже больных псориазом показал убедительные различия между этими показателями у пациентов и здоровых доноров. В прогрессирующий период заболевания в области псориазных высыпаний отмечается десятикратное увеличение количества FOXP3-позитивных клеток по сравнению со здоровой кожей и концентрации Т-регуляторных лимфоцитов в области эпидермо-дермальной зоны. При достижении ремиссии псориаза наблюдается снижение содержания Т-регуляторных клеток в оча-

ТАБЛИЦА 3

Количество и распределение Т-регуляторных лимфоцитов в пораженной коже больных псориазом и в коже здоровых лиц

| Группа | Число пациентов | Количество FOXP3- позитивных клеток, $X (min—max)$ | Распределение FOXP3-позитивных клеток, % | | | | Уровень значимости p |
|---|--------------------|--|--|---------------------------------|--------------------|------------------|---------------------------|
| | | | эпидермис | дерма | | | |
| | | | | эпидермо- дермальная зона | сосочковый слой | сетчатый слой | |
| Больные псориазом: прогрессирующий период период ремиссии | 37 | 70 (23—203) | 4,4 | 43,8 | 46,7 | 5,1 | $p_1 < 0,001$ |
| | 9 | 22 (8—90) | 2,6 | 23,9 | 47,6 | 25,8 | $p_1 0,004$ |
| Здоровые | 16 | 7 (4—12) | 1,4 | 18,9 | 24,9 | 54,8 | $p_2 < 0,001$ |

Примечание. p_1 — в сравнении со здоровыми донорами; p_2 — сравнение показателей у больных псориазом в прогрессирующий период и в период ремиссии.

гах поражения, не достигающее показателей группы контроля. Динамика экспрессии мРНК FOXP3 в области высыпаний имеет прямую корреляцию с численностью Т-регуляторных лимфоцитов в пораженной коже. Полученные нами данные о численности Т-регуляторных клеток в периферической крови у здоровых доноров согласуются с результатами других авторов [20].

Развитие или регресс псориатических высыпаний зависит от присутствия в коже клеток, инициирующих и поддерживающих воспаление, и клеток, супрессирующих иммунный ответ. Для более глубокого понимания роли Т-регуляторных лимфоцитов в патогенезе псориаза целесообразно исследовать динамику других ключевых участников псориатического воспалительного процесса — дендритных клеток, Th1-,

Th17-лимфоцитов и оценить не только количественные изменения, но и соотношения этих субпопуляций в разные периоды заболевания.

Выводы

1. Относительное количество Т-регуляторных клеток в периферической крови больных псориазом выше, чем у здоровых лиц.

2. Уровень экспрессии мРНК FOXP3 в пораженной коже пациентов с псориазом в прогрессирующий период более чем в 3 раза превышает аналогичный показатель у здоровых доноров.

3. Количество Т-регуляторных клеток в области псориатических высыпаний в прогрессирующий период псориаза в 10 раз выше, чем в коже здоровых лиц. ■

Литература

1. Tang Q., Bluestone J.A. The Foxp3+ regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation. *Nat Immunol* 2008; 9 (3): 239—44.
2. Nestle FO. Psoriasis. *Curr Dir Autoimmun* 2008; 10: 65—75.
3. Fontenot J.D., Rudensky A.Y. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T-cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nature Immunol* 2005; 6 (4): 331—37.
4. Bettelli E., Dastrange M., Oukka M. Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF- κ to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102 (14): 5138—43.
5. Feske S., Draeger R., Peter H. et al. The duration of nuclear residence of NFAT determines the pattern of cytokine expression in human SCID T cells. *J Immunol* 2000; 165 (1): 297—305.
6. Куклина Е.М., Ширшев С.В. Роль фактора транскрипции NFAT в иммунном ответе. *Биохимия* 2001; 66 (5): 581—91.
7. Chen W., Jin W., Hardegen N. et al. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF- β induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 2003; 198: 1875—86.
8. Бельтюкова А.С., Сысоев К.А., Хобейш М.М. и др. Экспрессия FOXP3 в коже при псориазе. *Иммунология* 2010; 6: 318—21.
9. Yun W.J., Lee D.W., Chang S.E. et al. Role of CD4CD25FOXP3 Regulatory T Cells in Psoriasis. *Ann Dermatol* 2010; 22 (4): 397—403.
10. Sugiyama H., Gyulai R., Toichi E. et al. Dysfunctional blood and target tissue CD4+CD25high regulatory T cells in psoriasis: mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. *J Immunol* 2005; 174: 164—73.
11. Bovenschen H.J., Kerkhof P.C., Erp P.E. et al. Foxp3+ regulatory T cells of psoriasis patients easily differentiate into IL-17A-producing cells and are found in lesional skin. *J Invest Dermatol* 2011 Sep; 131 (9): 1853—60.
12. Valdimarsson H., Thorleifsdottir R.H., Sigurdardottir S.L. et al. Psoriasis — as an autoimmune disease caused by molecular mimicry. *Trends Immunol* 2009; 30 (10): 494—501.
13. Liu M.F., Wang C.R., Fung L.L. et al. Decreased CD4+CD25+ T cells in peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol* 2004; 59: 198—202.
14. Olivito B., Simonini G., Ciullini S. et al. Th17 transcription factor RORC2 is inversely correlated with FOXP3 expression in the joints of children with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2009; 36 (9): 2017—24.
15. Bonifati C., Ameglio F. Cytokines in psoriasis. *Int J Derm* 1999; 38: 241—51.
16. Chen X., Baumeister M., Mannel D.N. et al. Interaction of TNF with TNF receptor type 2 promotes expansion and function of mouse CD4+CD25+ T regulatory cells. *J Immunol* 2007; 179 (1): 154—61.
17. Ma H.L., Napierata L., Stedman N. et al. Tumor necrosis factor alpha blockade exacerbates murine psoriasis-like disease by enhancing Th17 function and decreasing expansion of Treg cells. *Arthritis Rheum* 2010; 62 (2): 430—40.
18. Collamer A.N., Guerrero K.T., Henning J.S. et al. Psoriatic skin lesions induced by tumor necrosis factor antagonist therapy: a literature review and potential mechanisms of action. *Arthritis Rheum* 2008; 50: 996—1001.
19. Селютин А.В., Сельков С.А. Методы определения содержания Т-регуляторных клеток в периферической крови. *Лаб. диагностика*, 2008; 4: 19—21.
20. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Черешнев В.А. и др. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (метод многоцветного цитометрического анализа). *Мед. иммунол.*, 2009; 2—3: 227—38.